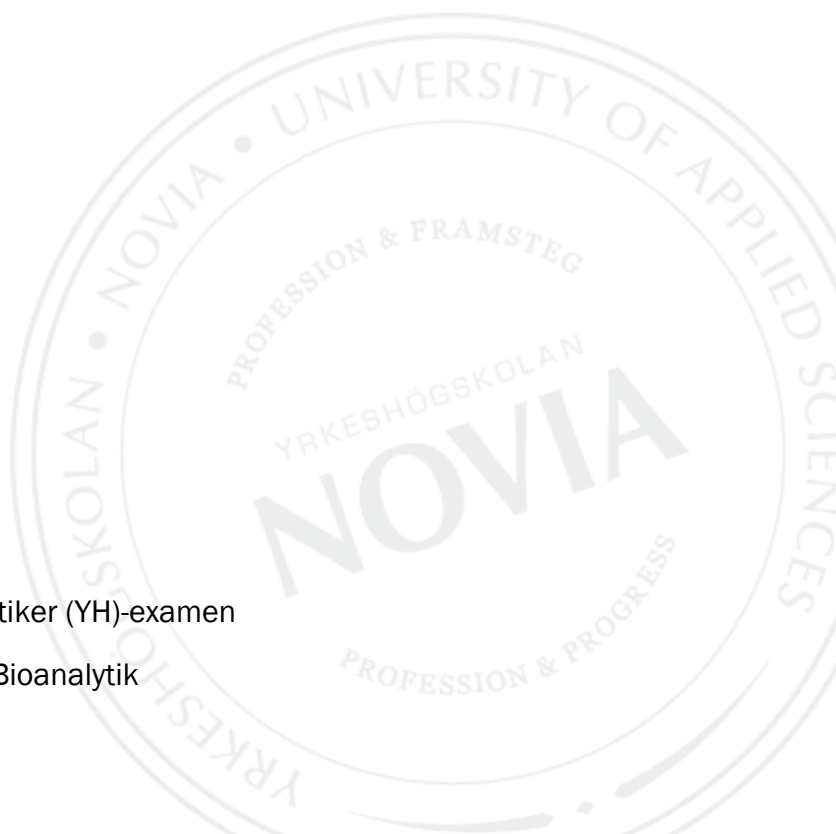


Interkalibrering av metoder för bestämning av urinens osmolalitet och relativa densitet

Alexandra Greco

Examensarbete för bioanalytiker (YH)-examen
Utbildningsprogrammet för Bioanalytik
Vasa 2011



EXAMENSARBETE

Författare: Alexandra Greco
Utbildningsprogram och ort: Bioanalytik, Vasa
Handledare: Ulla Penttinen & Jukka Salminen

Titel: Interkalibrering av metoder för bestämning av urinens osmolalitet och relativa densitet

Datum: 23.11.2011 Sidantal: 38 Bilagor: 0

Sammanfattning

Instrument- och metodvalidering är en viktig del av det kliniska laboratoriearbetet och bör ske varje gång en ny metod införs i rutinlaboratorier. Interkalibrering av metoder innebär en jämförelse av analysmetoder för att uppskatta systematiska skillnader mellan två analysmetoder och åtgärda dem.

Studiens syfte var att bestämma en ekvation för beräkningen av urinosmolaliteten från konduktiviteten och från urinens specifika vikt (USG). Detta har gjorts genom att mäta urinens konduktivitet med apparaten Sysmex UF1000i och USG med Clinitek Atlas® och Clinitek Advantus®, samt urinosmolaliteten med Osmostat OM-6020. Sedan har resultaten av de olika apparaterna jämförts med varandra med hjälp av regressionsanalys.

I undersökningen framkom följande: USG överensstämmer bättre än konduktiviteten med urinosmolaliteten. Därför bör USG-värdet beräknat med apparaten Clinitek Atlas® användas för att räkna ut urinosmolaliteten och kontrollera urinprovets koncentreringsgrad. Apparaten Sysmex UF1000i kräver en omkalibrering för beräkning av urinosmolaliteten från konduktiviteten. Genom beräkningen av standarddeviationen har respondenten konstaterat att apparaterna Clinitek Atlas®, Sysmex UF1000i och Osmostat OM-6020 är noggranna i sin mätning och därför tillförlitliga.

Språk: Svenska Nyckelord: urinosmolalitet, relativ densitet, specifik vikt, konduktivitet

OPINNÄYTETYÖ

Tekijä: Alexandra Greco

Koulutusohjelma ja paikkakunta: Bioanalytiikka, Vaasa

Ohjaajat: Ulla Penttinen & Jukka Salminen

Nimike: Virtsan osmolaliteetti ja suhteellinen tiheys-
määrittämenetelmien interkalibrointi

Päivämäärä: 23.11.2011

Sivumäärä: 38

Liitteet: 0

Tiivistelmä

Laite- ja menetelmävalidointi on tärkeä osa kliinistä laboratoriotyötä, ja validointi tulisi tehdä aina kun uusi menetelmä otetaan rutiinikäyttöön. Menetelmien interkalibroinnissa menetelmiä vertaillaan, ja menetelmien systemaattiset erot arvioidaan ja korjataan.

Tutkimuksen tarkoituksena oli määrätä yhtälö virtsan osmolaliteetin laskemiseksi johtokyvyn (konduktiviteetin) ja virtsan ominaispainon (USG) avulla. Johtokyky mitattiin Sysmex UF1000i -laitteella, ominaispaino Clinitek Atlas® - ja Clinitek Advantus® -laitteilla, sekä osmolaliteetti Osmostat OM-6020 -laitteella. Tuloksia vertailtiin regressioanalyysin avulla.

Tutkimus osoitti seuraavaa: Ominaispainolla ja osmolaliteetillä on suurempi korrelaatio kuin johtokyvyllä ja osmolaliteetillä. Osmolaliteetin laskemiseksi ja virtsan konsentraation tarkastamiseksi tulisi näin ollen käyttää Clinitek Atlas® -laitteen antamaa arvoa. Sysmex UF1000i -laite on kalibroitava uudelleen, jotta osmolaliteetin voisi laskea johtokyvyn avulla. Keskihajonta näyttää, että Clinitek Atlas® -, Sysmex UF1000i - ja Osmostat OM-6020 -laitteet ovat tarkkoja ja luotettavia.

Kieli: Ruotsi

Avainsanat: virtsan osmolaliteetti, suhteellinen
tiheys, ominaispaino, johtokyky

BACHELOR'S THESIS

Author: Alexandra Greco

Degree Programme: Biomedical Laboratory Science, Vaasa

Supervisors: Ulla Penttinen & Jukka Salminen

Title: Intercalibration of methods for the determination of urine osmolality and relative density

Date: 23.11.2011 Number of pages: 38 Appendices: 0

Summary

Instrument and method validation is an important part of the clinical laboratory work and should be performed every time a new method is introduced in routine laboratories. The intercalibration of methods involves the comparison of analytical methods, in order to estimate the systematic differences between two methods, and to make corrections.

The purpose of the study was to determine an equation for calculation of urine osmolality from conductivity and from urine specific gravity (USG). This was done by measuring urine conductivity with the device Sysmex UF1000i, USG with Clinitek Atlas® and Clinitek Advantus® and urine osmolality with Osmostat OM-6020. Then the results of the various devices were compared with each other by means of regression analysis.

The study revealed the following: USG agrees better than conductivity with urine osmolality. Therefore, USG value estimated with Clinitek Atlas® should be used to estimate urine osmolality and control the concentration degree of the urine sample. The device Sysmex UF1000i requires to be recalibrated to be able to estimate urine osmolality from conductivity. Standard deviation showed, that the devices Clinitek Atlas®, Sysmex UF1000i and Osmostat OM-6020 are accurate in their measurement and therefore reliable.

Language: Swedish Key words: urine osmolality, relative density, specific gravity, conductivity

Innehållsförteckning

1	Introduktion	1
2	Syfte och frågeställningar	2
3	Teoretisk bakgrund	3
3.1	Njurarna och urinproduktionen.....	3
3.1.1	Njurarnas uppbyggnad	3
3.1.2	Urinens sammansättning	5
3.1.3	Koncentrerad och utspädd urin.....	6
3.2	Relativ densitet	9
3.3	Specifik vikt	9
3.4	Konduktivitet	11
3.5	Osmolalitet	12
3.6	Analysapparater	13
3.6.1	Clinitek Atlas®	13
3.6.2	Clinitek Advantus®	15
3.6.3	Sysmex UF1000i.....	16
3.6.4	Osmostat® OM-6020.....	16
3.7	Jämförelse av metoder	18
4	Material och metoder	19
4.1	Utgångspunkter.....	19
4.2	Praktiskt genomförande	20
4.3	Dataanalysmetod	22
4.3.1	Passing-Bablok-regressionsanalys	22
4.3.2	Bland-Altman plot	23

5	Resultat och tolkning	25
5.1	Regressionsanalys	25
5.2	Bland-Altman-plot.....	30
5.3	Standarddeviation.....	31
5.4	Sammanfattning	32
6	Kritisk granskning och diskussion	33
	Källförteckning.....	35

1 Introduktion

Osmolalitet är måttet för den totala mängden upplösta ämnen i en vätska. Relativ densitet anger förhållandet mellan ett ämnes densitet och densiteten av ett standardämne och den beror på antalet och vikten av de lösta partiklarna i ämnet. En undersökning av urinens osmolalitet och dess relativa densitet ger en bild av njurarnas förmåga att koncentrera urinen.

Vid Vasa centralsjukhus kliniska laboratorier används apparaterna Clinitek Atlas® och Sysmex UF1000i för att utföra olika analyser på urinprov. Clinitek Atlas® utför bland annat analys av urinens specifika vikt, medan Sysmex UF1000i automatiskt övervakar bland annat urinens konduktivitet. Urinosmolaliteten kan beräknas utgående från konduktiviteten med hjälp av en ekvation som är inmatad i Effica, det dataprogram som används vid centralsjukhuset. I detta arbete skall det undersökas om denna ekvation för bestämningen av urinosmolaliteten från konduktiviteten stämmer, eller om det är mera tillförlitligt att använda sig av urinens specifika vikt som mäts med Clinitek Atlas® för att få värdet på urinosmolaliteten. Även tillförlitligheten i analysresultaten av urinens specifika vikt som fås från Clinitek Atlas® skall undersökas. I detta arbete används begreppen relativ densitet och specifik vikt som synonymer.

Syftet med detta examensarbete är att validera rutinmetoder och undersöka hur stora fel det kan uppkomma i jämförelse med referensmetoderna. Den metod som Sysmex UF1000i använder för mätningen av urinosmolaliteten är en rutinmetod, medan den metod som Clinitek Atlas® använder för mätning av urinens specifika vikt är en referensmetod. Som referensmetod för beräkningen av urinosmolaliteten har det använts en osmometer.

Detta examensarbete har beställts från Vasa centralsjukhus klinisk-kemiska laboratoriet av kemisten Jukka Salminen. Den praktiska delen av arbetet har utförts vid samma laboratorium, under uppsikt av kemisten. Allt praktiskt arbete har gjorts på rutinprover som fått ett nytt ID-nummer och inga patientuppgifter har använts i arbetet. På detta sätt kunde man utföra undersökningen på ett etiskt försvarbart sätt. Arbetet har som rubrik *Interkalibrering av metoder för bestämning av urinens osmolalitet och relativa densitet* och det skrivs på svenska.

2 Syfte och frågeställningar

Syftet med detta examensarbete är att bestämma kalibreringsfunktionen för beräkningen av urinosmolaliteten som utförs med Sysmex UF1000i och av urinens specifika vikt som utförs med Clinitek Atlas®. En annan viktig punkt i arbetet är att kontrollera om ekvationen som Sysmex UF1000i använder för beräkningen av urinosmolaliteten stämmer. Detta kommer att kontrolleras genom att jämföra analysresultaten från Sysmex UF1000i med analysresultaten som erhållits med osmometern och se om de överensstämmer. Respondenten mäter alltså inte urinosmolaliteten som sådan, utan försöker klassificera urinproverna i olika koncentrationsgrupper för att kunna avgöra om de är tillräcklig koncentrerade.

Problematiken som gett upphov till detta examensarbete är att det på urinlaboratoriet analyseras olika slag av prov, även sådana som inte är tillräckligt koncentrerade, när man istället borde kräva ett nytt prov. Det kan finnas olika orsaker till att provet inte är tillräckligt koncentrerat; vissa är av klinisk betydelse, medan andra inte är det. Om orsaken till att provet är för utspädd är att patienten har druckit mycket, är orsaken inte av klinisk betydelse och ett nytt prov borde krävas. Om patientens njurar däremot inte kan koncentrera urinen tillräckligt, är detta av klinisk betydelse och måste vidareundersökas.

Man borde således undersöka den bakomliggande orsaken till att urinprovet inte är tillräckligt koncentrerat och på detta sätt gruppera proverna i sådana som är av klinisk betydelse och skall vidareundersökas och sådana vilkas kliniska betydelse måste undersökas genom analysering av ett nytt prov. Denna problematik tas inte hänsyn till i detta examensarbete, utan den har bara konstaterats.

I detta examensarbete kommer respondenten att söka svaren på följande frågeställningar: kan man använda Sysmex UF1000i för att beräkna urinosmolaliteten? Hur stor är skillnaden i analysresultatet när man använder Sysmex UF1000i respektive osmometern? Kan man lita på analysresultatet av urinens specifika vikt som fås från Clinitek Atlas®? Är det tillförlitligare att beräkna urinosmolaliteten från urinens specifika vikt än från konduktiviteten? Vilken korrelation har Clinitek Atlas® och Clinitek Advantus™?

3 Teoretisk bakgrund

Den teoretiska bakgrunden innehåller en beskrivning av njurarnas uppbyggnad, urinens sammansättning och en förklaring av hur urinen koncentreras samt en beskrivning av analysapparaterna som har använts under den praktiska delen av arbetet och av mätmetoden som används för varje analysapparat. För att få en bättre förståelse för arbetet kommer den teoretiska bakgrunden även att innefatta en begreppsförklaring på de ord som är centrala för själva arbetet. För att förstå bättre vad begreppet relativ densitet innebär kommer även begreppet densitet att behandlas.

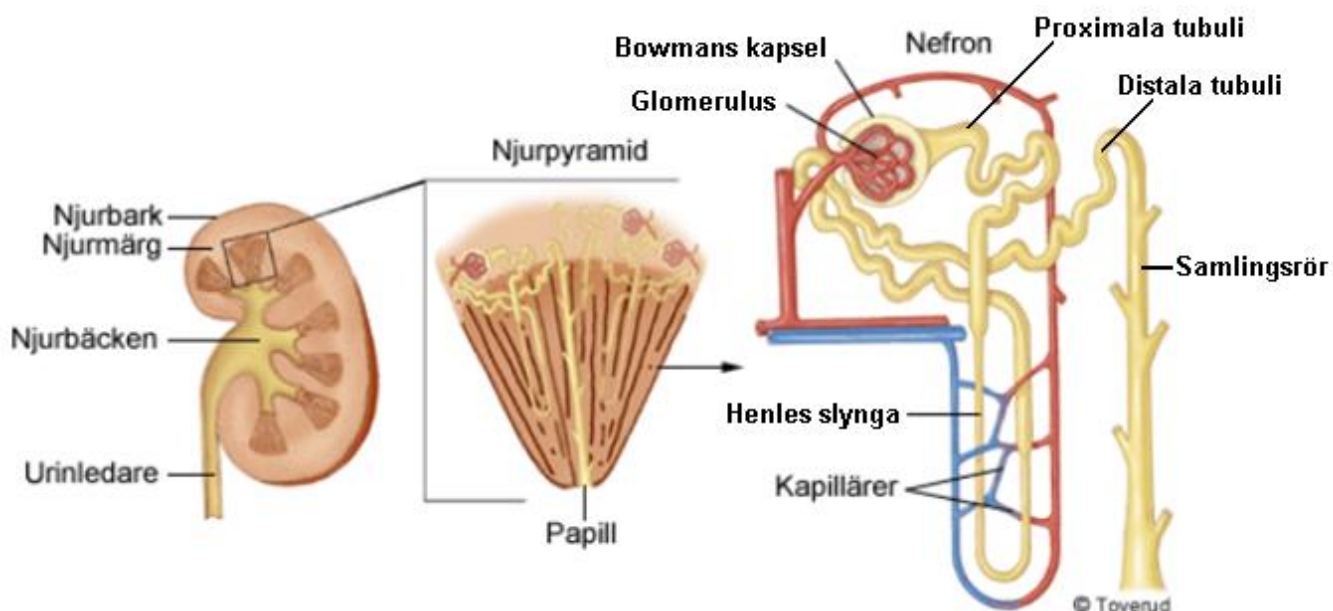
3.1 Njurarna och urinproduktionen

Njurarna är viktiga reglerande organ med många olika funktioner. De fungerar som ett naturligt filter genom att rensa bort avfallsämnen som bildats i kroppen under ämnesomsättningen från blodet, exempelvis urea som formas vid proteinomsättningen. Samtidigt som njurarna avlägsnar avfallsämnen ansvarar de för reabsorptionen av viktiga ämnen, såsom glukos, proteiner, aminosyror samt vatten. Njurarna tar även hand om koncentrationsreglering av vatten och joner i den extracellulära vätskan, underhållning av syra-bas-balansen och reglering av blodtrycket. Njurarna producerar även hormoner, såsom kalcitriol, samt enzymet renin och ansvarar även för glukoneogenesen, det vill säga produktionen av glukos från annat än kolhydrater. (Bjålie, Haug, Sand, Sjaastad & Toverud, 2007, 376; Sand, Sjaastad & Haug, 2004, 478).

3.1.1 Njurarnas uppbyggnad

Njurarna ligger en på var sin sida om ryggkotpelaren i den bakre bukväggen. De är bönformade, omkring 11 centimeter långa och väger cirka 150 gram var. De består av en yttre njurbark och en inre njurmärg. I njurmärgen finns 10 till 15 pyramider, var och en innehållande nefroner. Pyramiderna har en bred bas utåt mot njurbarken medan njurpapillen, som pyramidens spets kallas, slutar längst ner i märgen (se figur 1). Njurpapillerna har en mängd små öppningar genom vilka den färdiga urinen töms ut i

njurbäckenet. Varje njure innehåller cirka en miljon nefroner som renar blodet och bildar urin. Njurvenen, njurartären och urinledarna går genom njurporten, även kallad njurhilum. (Bjålie m.fl., 2007, 376-378; Lindström & Toverud, 2010; Sand m.fl., 2004, 481).



Figur 1. Njurens uppbyggnad (Editerad från Lindström & Toverud, 2010).

Nefronet består av ett rörsystem som kallas tubulussystemet. Detta indelas i olika delar beroende på epitelcellernas struktur och funktion. Tubulussystemet börjar med en tillsluten del, Bowmans kapsel som också kallas njurkropp (se figur 1). Bowmans kapsel innehåller nefronets kapillärnystan, det vill säga glomerulus, som filtrerar en nästan proteinfri vätska, den primära urinen, över till de proximala tubuli (se figur 1). De proximala tubuli ligger i njurbarken och för primärurinen till Henles slynga (se figur 1), en hårnålsliknande slynga som går ner i njurmärgen och sedan tillbaka upp till njurbarken. Henles slynga fortsätter över till distala tubuli (se figur 1) som ligger i njurbarken. Distala tubuli från flera nefroner slutar i samma samlingsrör (se figur 1). Samlingsrören fortsätter nedåt i njurpyramiderna och tömmer sedan den färdiga urinen i njurbäckenet. (Bjålie m.fl., 2007, 376-379; Sand m.fl., 2004, 481-483).

I tubulisystemet koncentreras det varje dag cirka 180 liter primärurin till en liten mängd sekundärurin, det vill säga färdig urin som förs ner via urinledaren till urinblåsan som sedan töms. Sammansättningen av den primära och sekundära urinen är olika och beror på utbytet av ämnena som sker mellan tubuluslumen och de peritubulära kapillärerna som omger tubulisystemet (se figur 1). Utbytet av ämnena

sker via reabsorption och sekretion. Detta ämnesutbyte regleras av hormoner och är av stor betydelse för upprätthållandet av stabila förhållanden i kroppen. (Sand m.fl., 2004, 481,483).

3.1.2 Urinens sammansättning

Urin är en klar, genomskinlig vätska som produceras av njurarna för att ta bort slaggprodukter från blodet. Vanligtvis har urinen en gul färg, vilken kan ändra vid intag av vissa läkemedel samt vid sjukdomstillstånd. Den genomsnittliga mängden urin som utsöndras under ett dygn är cirka 1,2 liter. Kemiskt sett är urinen huvudsakligen en vattenlösning som innehåller olika kemiska ämnen. (MedicineNet, 2011).

Urinens sammansättning har studerats av många forskare. I NASA Bioastronautics Data Book från 1971 sammanfattas urinen 158 olika kemiska beståndsdelar samt den förekommande mängden av dessa i urinen. Dessa beståndsdelar är i stort sett kategoriserade som elektrolyter, kvävehaltiga föreningar, vitaminer, hormoner, organiska syror och diverse organiska föreningar. (Putnam, 1971).

Urinens kemiska sammansättning varierar beroende på individens tillstånd, vattenintag, hormonernas påverkan, kosten och intaget av läkemedel. Urinen består främst av vatten och innehåller organiska ämnen som urea, kreatinin och urinsyra, oorganiska joner som Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} , Ca^{2+} , ammoniumjoner, sulfater och fosfater, samt små mängder enzymer, kolhydrater, hormoner, fettsyror, pigment och muciner, en grupp av glykosylerade proteiner. (Helmenstine, 2011). Onormalt kan urinen innehålla även socker som vid diabetes, äggvita som vid vissa former av njursjukdomar, gallpigment som vid gulsot eller onormala mängder av de ämnen som normalt förekommer i urinen (MedicineNet, 2011).

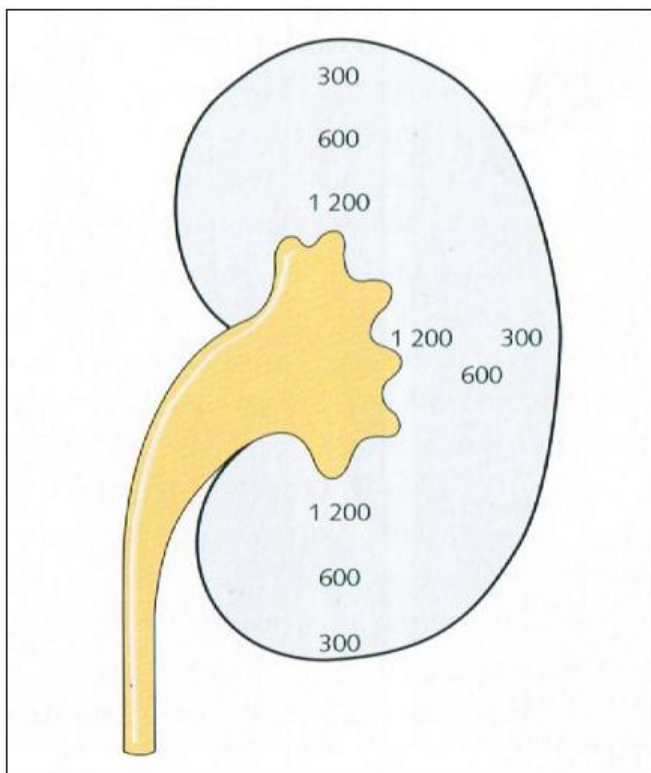
Ett exempel på urinen representativa kemiska sammansättning skulle vara 95 % vatten, 9,3 g/l urea, 1,87 g/l klorid, 1,17 g/l natrium, 0,750 g/l kalium, 0,670 g/l kreatinin, med mindre mängder av andra joner och föreningar (Helmenstine, 2011).

3.1.3 Koncentrerad och utspädd urin

I njurarnas tubulisystem omvandlas primärurinen till färdig urin, så kallad sekundärurin, genom reabsorption och sekretion av olika ämnen. Vid reabsorptionen, det vill säga återupptagningen av ämnena, transporteras ämnena ut ur tubuluslumen och till de peritubulära kapillärerna. På detta sätt återvinner njurarna merparten av de ämnen som gått förlorade under filtrationen av blodet. Reabsorption av ämnen är selektiv så att varje ämne kan återupptas till blodomloppet enligt organismens behov. Avfallsämnen reabsorberas inte utan hålls istället kvar i tubulussystemet och utsöndras med urinen. Under sekretionen, det vill säga utsöndringsprocessen, sker transporten av avfallsämnen som finns kvar i blodet till tubuluslumen. (Bjålie m.fl., 2007, 386; Sand m.fl., 2004, 491).

Så länge individens intag av vatten är normal är urinens koncentration av lösta ämnen, det vill säga dess osmolalitet, högre än plasmats. Detta på grund av att tubulisystemet återvinner mera vatten än lösta ämnen. Vid dåligt vattenintag återupptas det mera vatten i blodomloppet med följden att urinen blir väldigt koncentrerad. Kroppen måste emellertid utsöndra en viss mängd avfallsämnen per dygn och därför måste njurarna utsöndra en minimimängd urin varje dygn, cirka 500 ml. Detta är en obligatorisk vattenförlust som bidrar till uttorkning av kroppen vid dålig vattentillgång. Vid stort vattenintag återupptas däremot en mindre mängd av det filtrerade vattnet med följden att det utsöndras mera vatten med urinen. Detta gör urinen mycket utspädd. (Bjålie m.fl., 2007, 392-393; Sand m.fl., 2004, 480).

Reabsorptionen av vattnet i njurarna sker via osmos till följd av osmotiska tryckskillnader. Osmos är flödet av vatten från ett område med lägre osmolalitet till ett med högre genom en semipermeabel barriär som släpper igenom vattnet lättare än däri lösta ämnen (Solunetti, 2006). Vattenreabsorptionen från tubuluslumen kan emellertid bara fortgå tills den primära urinen i tubulussystemet är i osmotisk jämvikt med vävnadsvätskan som omger tubulussystemet. Detta hindras av njurarnas behandling av joner, urea och vatten som gör att osmolaliteten i vävnadsvätskan stiger från njurbarken in mot njurbäckenet (se figur 2). Detta möjliggör njurarnas utsöndring av koncentrerad urin. (Bjålie m.fl., 2007, 392-393; Sand m.fl., 2004, 500, 501).



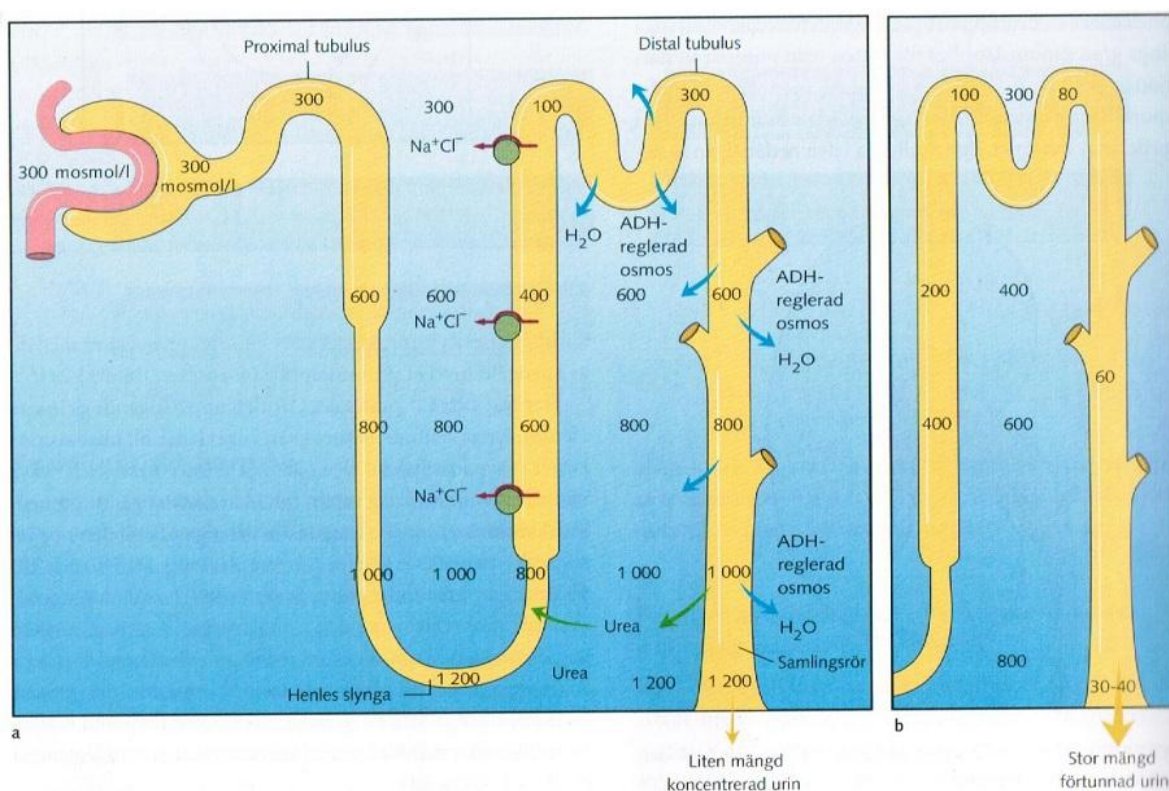
Figur 2. Osmolalitetens skillnader i njurarnas bark och märg. Siffrorna anger mOsmol/L (Bjålie m.fl., 2007, 392; Sand m.fl., 2004, 501).

Epitelcellerna i den nedstigande delen av Henles slynga är i hög grad genomsläppliga för vatten, medan epitelcellerna i den uppåttstigande grenen inte är det. De sistnämnda separerar istället vatten och salter genom att pumpa ut natrium- och kloridjoner ur tubuluslumen medan vattnet lämnas kvar. Detta leder till en ökad osmolalitet i vävnadsvätskan, som drar till sig vattnet från den nedstigande grenen av Henles slynga. För att det ska vara möjligt för njurarna att utsöndra utspädd urin måste återupptagningen av salterna ske utan att vattnet följer efter via osmosen. (Bjålie m.fl., 2007, 392; Sand m.fl., 2004, 501, 502).

Koncentrationen av urin sker när den primära urinen, på väg från njurbarken till njurbäckenet, strömmar genom områden med stigande osmolalitet av vävnadsvätskan. Under påverkan av det antidiuretiska hormonet (ADH) som utsöndras av hypofysen blir epitelcellerna i distala tubuli och i samlingsrören genomsläppliga för vattnet. På detta sätt kan vattnet lätt förflyttas genom osmos från tubulusvätskan över till den koncentrerade vävnadsvätskan och därifrån vidare till de peritubulära kapillärerna. Däremot är epitelcellerna i distala tubuli och samlingsrören nästan helt

ogenomsläppliga för vatten utan påverkan av ADH. (Bjålie m.fl., 2007, 392, 393; Sand m.fl., 2004, 501-503).

Vid underskott av vatten utsöndras mycket ADH som aktiverar vattengenomsläppligheten i distala tubuli och i samlingsrören. På detta sätt dras vattnet ut ur tubulussystemet tills osmolaliteten i tubulussvatskan är densamma som omkring liggande vävnadsvätskans osmolalitet (se figur 3 a). Urinen blir då maximalt koncentrerad och dess osmolalitet blir lika hög som osmolaliteten i njurmärgens vävnadsvätska. Däremot upphör frisättningen av ADH från hypofysen vid stort vattenintag. Epitetet i distala tubuli och samlingsrören blir då nästan ogenomsläppligt för vatten och urinen som utsöndras är utspädd till följd av att vattnet från tubuluslumen inte reabsorberats till blodomloppet (se figur 3 b). (Bjålie m.fl., 2007, 392, 393; Sand m.fl., 2004, 501-503).



Figur 3. Njurarnas förmåga att utsöndra koncentrerad (a) respektive utspädd (b) urin (Bjålie m.fl., 2007, 393; Sand m.fl., 2004, 502).

Urea spelar också en viktig roll för njurarnas förmåga att koncentrera urinen. Den bidrar till att skapa hyperosmolalitet, det vill säga en högre osmolalitet, i njurmärgens vävnadsvätska, vilken är nödvändig för att utsöndringen av koncentrerad urin skall kunna ske. Ureaomloppet i nefronet möjliggör att höga koncentrationer av urea

skapas i den sista delen av samlingsrören så att utsöndringen av den nödvändiga mängden urea kan ske medan vattenförlusten begränsas. Intagningen av stora mängder proteiner ger en större mängd urea och därmed förbättrad urinkoncentreringsförmåga. (Sand m.fl., 2004, 503-505).

3.2 Relativ densitet

Ordet densitet kommer från latinet *de'nsitas* och betyder täthet eller massa. Det är en fysikalisk term som anger ett ämnes massa per volym och har enheten kilogram per kubikmeter, kg/m³. Densitet är beroende av temperatur och tryck. Äldre ord som använts för densitet är täthet och specifik vikt. (*Nationalencyklopedin*, 2011a).

Relativ densitet är förhållandet mellan ett ämnes densitet och densiteten av ett referensämne under specifika förhållande (*The free dictionary*, 2011b). I samband med mätningen av gasers relativa densitet används ofta luftens densitet som standard, medan vid mätningen av vätskors relativa densitet används ofta vattnets densitet som standard. Vätskors relativa densitet avser kvoten mellan en vätskas densitet och vattnets densitet vid samma temperatur. Vattnets densitet vid +4 °C är 0,999 95 kg/dm³. (*Wikipedia*, 2011a).

3.3 Specifik vikt

I *Nationalencyklopedin* (2011c) förklaras begreppet specifik vikt som en äldre benämning på ordet densitet. I *Wikipedia* (2011b) framhålls däremot specifik vikt som en synonym till begreppet relativ densitet. Detta påstående styrks även av *Encyclopedia Britannica* (2011) som också använder begreppet specifik vikt som synonym till relativ densitet. I *Wikipedia* (2011b) sägs också att tidigare användes specifik vikt som synonym till densitet, men att det inte längre är så. I detta examensarbete används benämningen specifik vikt och relativ densitet som synonymer. Då apparaten Clinitek Atlas® ger analysresultat på urinens specifika vikt kommer det framöver endast att användas denna benämning.

Eftersom den specifika vikten är förhållandet mellan två kvantiteter, det vill säga två mängder, som har samma enhet (massa per volymenhet), har specifik vikt ingen

enhet. Exempelvis är den specifika vikten av flytande kvicksilver 13,6 eftersom dess verkliga densitet är 13,6 kg/liter, det vill säga 13,6 gånger högre än vattnets. (*The free dictionary*, 2011a). Man använder specifik vikt när man är intresserad av storleksförhållandet mellan två olika densiteter snarare än absoluta värden (*Wikipedia*, 2011b).

Urinens specifika vikt (USG) representerar den relativa andelen av lösta fasta komponenter till volymenheten av ett urinprov (De Buys Roessingh, Drukker & Guignard, 2001). Medan urinosmolaliteten avgörs av antalet partiklar i lösningen, bestäms USG både av antalet och storleken på partiklarna i lösningen. (Burton, 2009). Med andra ord visar USG urinprovets relativa grad av koncentration eller utspädning. Detta varierar beroende på individens hydrering och till stor del på mängden vätska som återupptas längs tubulussystemet i njurarna. (De Buys Roessingh m.fl., 2001). USG används ofta för att uppskatta urinosmolaliteten och analyseras antingen med testremsor eller med refraktometri.

Bestämningen av USG är en viktig del av rutinanalyserna på urinprov. Även om det finns en betydande variation i patientens USG-värden från dag till dag och även under loppet av en dag, har bestämningen av USG kliniskt värde som screeningstest för att mäta njurarnas förmåga att koncentrera urinen. Vid en skada på njurarnas tubulisystem är denna njurfunktion i allmänhet den första som sviktar. Referensvärdet för USG brukar vara 1,015–1,025. (Faulkner & King, 1976, 1005-1006).

I *Journal of Clinical Laboratory Analysis* (JCLA) har det publicerats en studie som visade att USG, som analyserats med både testremsor och refraktometri, hade en korrelation med urinosmolaliteten på cirka 0,75. Det vill säga att man kan med tillförlitlighet uppskatta urinosmolaliteten från värdet av USG. I samma studium kom det emellertid fram att patologiska urinprov hade en signifikant sämre korrelation mellan USG och osmolaliteten än normala urinprov. Skribenterna kom i studien till slutsatsen att på patologiska urinprov borde direkt analys av urinosmolaliteten med en osmometer användas för att få ett tillförlitligare resultat. (Sethi m.fl., 2010).

3.4 Konduktivitet

Konduktiviteten, eller ledningsförmågan, uttrycker hur bra elektrisk ström kan flöda genom en ledare, det vill säga ett ämne som leder den elektriska strömmen bra. I en elektrolytlösning såsom urin som innehåller joner påverkas konduktiviteten av jondensiteten. Det finns en hög korrelationskoefficient mellan urinkonduktiviteten och urinosmolaliteten. (Sysmex UF-1000i, 2007, 10-17). Konduktivitet har enheten siemens per meter, S/m (*Nationalencyklopedin*, 2011b).

Syftet med studien som Kavukcu med flera (1998) utförde var att fastställa genomförbarheten av urinkonduktivitets mätning som en metod i utvärderingen av njurfunktionen. I studien kom det fram att det finns en betydande positiv relation mellan urinosmolalitet och konduktivitet. Dessutom, medan urinosmolaliteten och USG påverkas av många molekyler som inte är elektrolyter, påverkas urinens konduktivitet bara av natrium- och urinsyrakoncentrationen. Dessa resultat tyder på att konduktiviteten kan användas som en parameter i rutinanalysen av urinprov.

I en annan studie, som utförts av Gelbakhiani med flera (2009), beskrivs användningen av konduktivitetsmätning för att minska förekomsten av osmolala gap. Metoden baserar sig på den totala specifika elektrokonduktiviteten av tillgängliga elektrolyter i den vätska som skall analyseras. Denna metod innebär mätningen av den totala summan elektrolyter i den biologiska vätskan. På detta sätt gör metoden det möjligt att analysera plasma- och urinosmolaliteten med hög precision, vilket minskar osmolala gap.

Osmolala gap är en matematisk konstruktion som gäller för koncentrationer av osmolyter, det vill säga osmotiskt aktiva upplösta ämnen. I den medicinska litteraturen används begreppen osmolal och osmolar omväxlande för att beskriva dessa gap, men användningen av termen osmolal rekommenderas. Vid beräkningen av osmolala gap krävs mätningen av plasma- eller serumosmolalitet via fryspunktsnedsättningsosmometri, samt mätningen av halten Na^+ , glukos och urea i plasma eller serum. (Tietz, Siggaard-Andersen & Pruden, 1994, 1443).

3.5 Osmolalitet

Osmolaliteten uttrycker koncentrationen av de lösta partiklarna i en lösning per kilogram vätska, osmol/kg vätska. Dessa partiklar skapar lösningens osmotiska tryck. (Theodorsson & Malm, 2003, 59). Termen osmolaritet skiljer sig från termen osmolalitet genom att den uttrycker koncentrationen av de lösta partiklarna i en lösning per liter vätska, osmol/L vätska. Osmolaliteten är en termodynamiskt mera korrekt term eftersom en lösningskoncentration uttryckt på basis av dess vikt är oberoende av temperaturen, medan koncentrationer uttryckt på basis av deras volym varierar beroende på lösningens temperatur. Eftersom fysiologiska vätskors osmolalitet är relativt låg, används enheten milliosmol (mOsm) per kilogram vatten, mOsm/kg. (Freier, 1994, 185). Osmolaliteten bestäms genom mätning av fryspunktsnedsättningen. (Grubb, Christensson & Sterner, 2003a, 123).

Mätningen av osmolalitet i biologiska vätskor är särskilt viktig för värderingen av osmoregleringen (Gelbakhiani, Ebralidze, Zedania & Tugushi, 2009). Bestämning av plasmans och urinens osmolalitet används vid bedömning av elektrolytstörningar och störningar i syra-basbalansen (Scott m.fl., 2008, 439). Den enskilda mätningen av plasma- eller urinosmolalitet är av begränsad kliniskt nytta. För att uppnå en mera exakt och kliniskt användbart mätning av tubulussystemets förmåga att koncentrera urinen bör en simultan mätning av plasma- och urinosmolalitet utföras. (Faulkner & King, 1976, 1008). Jämförelsen av plasma- och urinosmolalitetens värden ger en bild av njurarnas vattenregleringsförmåga i sökningen av svåra elektrolytrubbningar som kan förekomma exempelvis vid *Diabetes insipidus*. (Scott m.fl., 2008, 439).

Urinens osmolalitet bestäms av njurarnas förmåga att koncentrera urinen. Osmolaliteten varierar beroende på återupptagningen av vatten i distala tubuli. (Grubb m.fl., 2003a, 123). Under normala fysiologiska förhållanden tyder låg urinosmolalitet på hydrering, medan hög urinosmolalitet tyder på dehydrering (Leech & Penney, 1987, 671). Funktionsnedsättning i distala nefronsegmenten kan göra urinen isoosmolal med plasma; vid insufficiens blir den hypoosmolal. Nedsatt funktion i distala nefronsegmenten förekommer vid olika sjukdomar, exempelvis hyperkalcemi, hypokalemi och hyperparatyreoidism. (Grubb, m.fl., 2003a, 123).

Hos normala individer varierar urinosmolaliteten mycket beroende på kroppens hydrering. Efter ett överdrivet intag av vätska kan den osmotiska koncentrationen

sjunka så lågt som 50 mOsm/kg vatten, medan hos individer med mycket begränsat vätskeintag kan den osmotiska koncentrationen stiga upp till 1400 mOsm/kg vatten. Om ett patientprov har en osmolalitet på >600 mOsm/kg vatten, kan det antas att njurarnas förmåga att koncentrera urinen är normalt. (Delaney m.fl., 2008, 652). Referensvärdet för urinosmolaliteten som används vid Vasa centralsjukhuset är 600-1200 mOsm/kg vatten. Detta gäller för vuxna patienter från 15 år uppåt. (Vaasan Keskussairaala Laboratorio-ohjekirja, 2010).

Mätning av urinens osmotiska koncentration anses vara mera tillförlitlig än mätning av USG för bedömningen av njurarnas förmåga att koncentrera urinen. Detta eftersom regleringen av vattenutsöndringen delvis bestäms av osmolaliteten på kroppens vätskereserv. I andra upplagan av samlingsverket *Tietz Textbook of Clinical Chemistry* (1994, 1557) skriver Whelton, M.D., Watson och Rock om en jämförelsestudie som utförts mellan USG och urinosmolalitetsvärden som erhållits från friska individer samt från patienter med njursjukdomar. Ur studien förekom att mellan USG och urinosmolalitetsvärden i den första gruppen fanns ett samband, medan värdena i gruppen med njursjukdomar hade ett mycket mindre samband. Denna brist på korrelation kan förklaras delvis med det faktum att förekomsten av tunga molekyler, såsom proteiner, glukos med mera, påverkar USG betydligt mera än urinosmolaliteten. (Whelton, Watson & Rock, 1994, 1557).

3.6 Analysapparater

Vid Vasa centralsjukhus används tre apparater för att analysera urinens specifika vikt, konduktiviteten och urinosmolaliteten. Dessa är Clinitek Atlas®, Sysmex UF1000i och Osmostat® OM-6020. Ibland använder man även apparaten Clinitek Advantus™ för att mäta urinens specifika vikt. I detta examensarbete har alla dessa apparater använts.

3.6.1 Clinitek Atlas®

I apparaten Clinitek Atlas® används testremsor för analysering av urinprover. Det finns testremsor för bestämningen av olika ämnen i urin, bland annat glukos, albumin och hemoglobin. Det finns också testremsor för bestämning av urinens densitet.

Testremsor kan avläsas visuellt, men detta ger en semikvantitativ bedömning. Maskinell avläsning av testremsorna har vunnit framsteg och ökat precisionen och reproducerbarheten av resultaten. (Grubb m.fl., 2003b, 103).

Apparaten är en helautomatisk reflektansspektrofotometer. För apparaten används specifika reagensförpackningar som innehåller en rulle med reagensremsor med specifika reagensområden för att testa glukos, bilirubin, ketoner, blod, pH, proteiner, urobilinogen, nitriter och leukocyter i urinproven. Apparaten bestämmer även provets grumlighet genom att mäta överföringen och spridningen av ljuset som passerar genom provet. (Siemens, 2008).

Clinitek Atlas® analyserar specifik vikt med hjälp av brytningsindex metoden. Med brytningsindex kan man identifiera och bestämma koncentrationen av ämnen i provet. När en ljusstråle passerar ytan mellan två ämnen bryts den på grund av olika utbredningshastigheter. Ljusets brytning uttrycks genom ämnets brytningsindex som definieras utifrån ljushastigheten i vakuum och ljushastigheten i ämnet. (Simonsen, 2005, 69).

Ljuset överförs via en speciellt utformad optisk fiber på vilken provet är fördelat. Mängden ljus som passerar genom den optiska fibern mäts konstant. Eftersom brytningsindexet är proportionellt till den specifika vikten, är ljuset som mäts i slutet av den optiska fibern linjärt relaterat till urinprovets specifika vikt. Brunnen för mätningen av USG hålls fuktig för att undvika att provrester torkar i den och kontaminerar den optiska fibern. Torkade provrester påverkar noggrannheten av de följande USG avläsningar tills brunnen rengjorts. (Siemens, 2008).

Både brytningsindex och USG-värden är relaterade till mängden och typen av de lösta ämnena i provet. Ökade mängder av ämnen såsom glukos och proteiner kan delvis göra ogiltig korrelationen och ge missvisande USG-värden. (Faulkner & King, 1976, 1007).



Figur 4. Clinitek Atlas® Automated Urine Chemistry Analyzer (Siemens, 2011c).

3.6.2 Clinitek Advantus®

Clinitek Advantus® är en halvautomatisk kemisk analysator som mäter halten leukocyter, nitriter, proteiner, blod, glukos, ketoner, bilirubin, urobilinogen, pH, specifik vikt och kreatinin i urinproven. Den använder torra reagensremсор som manuellt sänks ner i provrören och sedan läggs i apparaten för avläsning. Apparaten mäter reagensremсорnas färgförändring genom reflektansspektrofotometri. (Siemens, 2011a). Mätmetoden är således densamma som i Clinitek Atlas®. Skillnaden mellan de två apparaterna är att man får ett noggrannare USG-värde från Clinitek Atlas® eftersom resultatet innehåller flera decimaler än det man får från Clinitek Advantus®.



Figur 5. Analysapparaten Clinitek Advantus® (Siemens, 2011b).

3.6.3 Sysmex UF1000i

Sysmex UF1000i är en helautomatisk urinprovsanalysator. Den kan utföra screening av onormala prov med hög precision. Apparaten utför räkning av erythrocyter, leukocyter, epitelceller, bakterier och cylindrar, samt ger information om förekomsten av jästliknande celler, kristaller, SRC (small round cells), patologiska cylindrar, slem och spermier i provet. (Sysmex UF-1000i, 2007, 1-1).

Apparaten övervakar automatiskt urinens konduktivitet, som har visat sig korrelera väl med urinosmolaliteten och kreatinin (eHealth, 2010). Konduktiviteten mäts med hjälp av en specifik sensor i apparaten. Det är enbart laddade partiklar som detekteras av sensorn, medan partiklarna utan laddning, exempelvis glukos, mäts inte. Detta är ett problem och största felkällan, eftersom glukos höjer osmolaliteten, men inte beaktas av Sysmex UF1000i. Sysmex UF1000i beräknar osmolaliteten från konduktiviteten med hjälp av en ekvation. Urinens specifika vikt kan också beräknas med hjälp av ekvationen. (Personlig kommunikation med kemisten Jukka Salminen, 20.1.2011).



Figur 6. Urinanalysatorn Sysmex UF1000i (Sysmex, 2011).

3.6.4 Osmostat® OM-6020

Osmometri är tekniken som mäter koncentrationen av de lösta partiklarna som bidrar till det osmotiska trycket i en lösning. (Scott m.fl., 2008, 439). Osmometern analyserar en vätskas osmolalitet via fryspunktsnedsättningsmetod, som är direkt proportionell

mot den molala koncentrationen av lösta partiklar i vätskan (Theodorsson & Malm, 2003, 59).

Inom det kliniska laboratoriet anses en vätskas kolligativa egenskaper vara: höjt osmotiskt tryck, sänkt ångtryck, höjd kokpunkt och sänkt fryspunkt. Dessa har alla ett direkt samband med det totala antalet lösta partiklar per massa av lösningsmedlet. Teoretiskt sett kan vilken som helst av de fyra kolligativa egenskaperna användas som analysmetod vid mätning av osmolaliteten, men fryspunktsnedsättningsmetoden används oftast i kliniska laboratorier på grund av dess enkelhet. (Scott m.fl., 2008, 439).

Vid mätning av osmolaliteten med fryspunktsnedsättningsmetoden nedkyls provet till en lägre temperatur än den förväntade fryspunkten. Frysningen inleds antingen genom en fysisk chock, med hjälp av en liten saltkristall eller en mycket kall omrörartråd. Detta ger en blandning av vatten och is som lämnar vid fryspunkten tillräckligt länge för att temperaturen skall kunna mätas, förutsatt att det finns en rättvisande termometer utvald för att ge en linjär respons. (Vitech Scientific – Vital Clinical Photometers, 2011).

I Osmostat® OM-6020 kontrolleras systemet för mätsektionen termiskt med termomoduler och provets temperatur mäts med en sensor. Medan provet kyls ner gradvist, förblir det i flytande form utan att förvandlas till is, även när dess temperatur sjunker under fryspunkten. Provet nerkyls ytterligare tills det blir kristalliserat och utgör då en blandning av is och vätska. Denna blandnings temperatur mäts. Efter avslutad mätning hettas provet upp för att återfå sin flytande form. (Operating manual, u.å., 4).

Ett förhöjt osmolalitetvärde kan uppstå efter operation eller i samband med svåra brännskador på grund av vattenförlusten som sker. En osmometer kan inte bara användas för att upptäcka detta, utan även för att övervaka infusionen av vätskor och rätta till den. Njurarnas förmåga att koncentrera urinen och njurfunktionen kan analyseras med hjälp av osmometern genom att jämföra osmolaliteten i serum och urin. (Vitech Scientific – Vital Clinical Photometers, 2011).

3.7 Jämförelse av metoder

Instrument- och metodvalideringen är en viktig del av det kliniska laboratoriearbetet. Varje ny metod bör valideras vid dess införande i rutinlaboratorier. Analysmetoderna jämförs för att utvärdera en metods repeterbarhet och noggrannhet. Då jämförs resultaten som erhållits med den nya analysmetoden och resultaten som erhållits med en annan analysmetod. Det ideala resultatet uppnås då den andra analysmetoden som används vid jämförelsen är en referensmetod. Analysresultatet som erhålls från referensmetoden är det rätta och riktiga. Den nya metoden som skall tas i användning bör därför kalibreras enligt referensmetoden. (Bilic-Zulle, 2011, 49).

Målet med jämförelsen av metoder är att uppskatta bias, det vill säga systematiska skillnader av både konstant och proportionell typ, mellan två olika metoder. Ett exempel är utredningen av förekomsten av eventuella systematiska skillnader i två olika metoders noggrannhet vid analyseringen av patientprover. Om skillnaden mellan två metoder är liten och kliniskt acceptabel, kan de två metoderna användas samtidigt och omväxlande. Men om skillnaden är oacceptabel bör den bakomliggande orsaken till skillnaden utredas vidare för att det ska gå att kalibrera om den felaktiga analysmetoden. Detta är vad interkalibrering av metoder innebär. (Bilic-Zulle, 2011, 49).

4 Material och metoder

Detta kapitel presenterar materialet och metoderna som använts i genomförandet av denna undersökning. Kapitlet behandlar utgångspunkterna för denna studie, det praktiska genomförandet av undersökningen samt metoderna som använts vid datainsamlingen och analysen av erhållna data.

4.1 Utgångspunkter

Studiens syfte var att bestämma kalibreringsfunktion för beräkningen av urinosmolaliteten med hjälp av Sysmex UF1000i och av urinens specifika vikt (USG) med Clinitek Atlas®. Detta har gjorts genom att mäta urinens konduktivitet med Sysmex UF1000i, USG med Clinitek Atlas® och Clinitek Advantus®, samt urinosmolaliteten med Osmostat OM-6020. Sedan har resultaten av de olika apparaterna jämförts med varandra.

Urinproverna som använts i undersökningen var rutinprov som kom till laboratoriet för analys. Proverna valdes efter att de analyserats färdigt av laboratoriets personal och efter att resultaten hade matats in i datasystemet. Under insamlingen av prover var målet att få prov med mycket varierande koncentrationsgrad. Detta gjordes genom att gå igenom USG-värdet av proverna som analyserats på Clinitek Atlas® i sökandet efter prov med särskilt lågt eller högt USG-värde. Patologiska prov var inte av intresse i valet av prov eftersom Sysmex UF1000i och Clinitek Atlas® är rutinapparater som analyserar rutinprov.

Under undersökningens gång har 90 urinprov analyserats av vilka de första 20 analyserades två gånger på Clinitek Atlas®, Sysmex UF1000i och Osmostat OM-6020 för att göra det möjligt att räkna ut den interna variationen för varje apparat. Efter analysen av de 20 första proven slutade respondenten att använda apparaten Sysmex UF1000i och tog i bruk Clinitek Advantus® istället, men först kördes ännu en serie med 10 prov på alla fyra apparaterna för att få mera data att basera resultatet på.

Vid analys av urinosmolalitet begärs att provet tas i fabriksrena rör utan konserveringsmedel (Vaasan Keskussairaala Laboratorio-ohjekirja, 2010), men i valet

av provrör har respondenten tagit både prov som kommit i fabriksrena rör och prov som kommit i rör med konserveringsmedel. Respondenten har inte tagit i beaktande konserveringsmedlens eventuella påverkan på urinosmolalitetsvärden i denna studie, men det skulle vara intressant att kontrollera detta i en eventuell uppföljning av studien.

4.2 Praktiskt genomförande

Undersökningens praktiska del utfördes vid Vasa centralsjukhus på klinisk-kemiska laboratoriet under tiden 11.4–20.5.2011. Respondenten valde urinprov med speciellt låg eller hög specifik vikt för att hitta prov med lägre värde än 1,015 eller högre värde än 1,025. Eftersom det handlade om rutinprov var det svårt att hitta prov med väldigt låga eller höga värden, de flesta prov hade USG-värden inom referensområdet. Proverna fick en ny kod som användes vid analysen med alla apparater. Inga namn, personbeteckningar eller undersökningsnummer användes eller antecknades under undersökningens gång för att skydda personernas integritet.

Proven analyserades i serier på tio prov per serie. En serie analyserades på alla apparaterna innan den följande serien valdes. På detta sätt undveks större förändringar i proven före analysering på följande apparat. Proverna analyserades först i Clinitek Atlas® och Sysmex UF1000i i en provrack där det rymdes 10 prov. Racken sattes först i den ena apparaten och sedan i den andra. Före inmatningen av proverna i Clinitek Atlas® blandades proven genom att provracken innehållande provrören svängdes. Samma procedur följdes före inmatningen av proven i Sysmex UF1000i, även om apparaten själv blandar om proven, för att säkerhetställa provets homogenitet. När analysen avslutas antecknades resultatet och proverna analyserades i följande apparat.

Före analysen av proven med Clinitek Advantus® kördes kontrollösningen för Clinitek Atlas® fem gånger för att vara säker på att apparaten visade rätt eftersom den inte hade använts på länge. Efter det kördes kontrollösningen bara en gång före analysen av proven. Analysen gick till på följande sätt. Först infördes provets tillfälliga nummer i apparaten. Sedan togs en reagensremsa, doppade den i urinprovet, torkade dess sida försiktigt mot en pappershandduk och lade den på apparatens kälke. Respondenten var noggrann med att se att det inte tog längre än två minuter innan apparaten tog in

reagensremsan och började analysera den. Om detta hände, togs reagensremsan bort och en ny sattes istället. Detta eftersom man måste avläsa resultaten inom en viss tid från det att provet och reagensen kommit i kontakt med varandra, annars kan resultatet bli missvisande. Vid avslutad analys stängdes apparaten av och kälken tvättades.

Proven centrifugerades innan mätningen av osmolaliteten utfördes för att undvika risken att apparaten stockades. Proven centrifugerades i 1600 rpm i fem minuter. Innan mätningen med Osmostat® OM-6020 påbörjades, utfördes kalibreringen av apparaten med dess standardlösningar. Efter detta kördes osmometerns kontrollösning Biorad Urine 2 som var rumstempererad och väl omblandad. När mätningen av kontrollösningen var avslutad, analyserades urinproverna genom att pipettera ca 200 µL prov i en kyvett, lägga den i apparaten och sätta igång analyseringen. Efter avslutad analysering slängdes kyvetten i riskavfallsbehållaren.

Vid analysen av osmometerns kontrollösning förekom det lite problem eftersom resultaten var på högre sidan och hade varit det ett tag. Därför gjordes en egen kontrollösning av natriumklorid med känd osmolalitet. För att göra detta följdes mängderna som finns i en tabell i boken Fundamentals of Clinical Chemistry (Faulkner & King, 1976, 1011).

Tabell 1. Standardisation.

Standard mOsm/kg H₂O	Förväntad fryspunkt (°C)	Koncentration av NaCl (g/kg H₂O)
100	0,186	3,094
300	0,557	9,476
500	0,929	15,93
750	1,394	24,03
1000	1,858	32,12
1400	2,60	44,98

(Faulkner & King, 1976, 1011).

Respondenten ville ha en kontrollösning med osmolaliteten 300 mOsm/kg vatten. För att uppnå detta visar tabellen att 9,476 g natriumklorid (NaCl) skall blandas till ett kilogram vatten. Respondenten valde att tillverka en mindre mängd lösning genom att blanda 0,9476 g natriumklorid till 100 g vatten.

0,949 g natriumklorid vägdes i en mätflaska och blandades med 99,98 g renat vatten. Sedan räknades lösningens osmolalitet genom att dividera den uppmätta mängden natriumklorid med mängden natriumklorid som togs från tabellen, det vill säga 0,949 dividerat med 0,9476. Resultatet avrundades till 1,002. Sedan multiplicerades resultatet med den av källan angivna osmolaliteten för kontrollösningen, det vill säga 300 mOsm/kg vatten, vilket gav resultatet 300,6 mOsm/kg vatten. Detta var kontrollösningens osmolalitet. Respondenten mätte kontrollösningen alltid före körning av proverna. Resultaten av mätningarna var alltid inom referensramen, 300-301 mOsm/kg vatten.

4.3 Dataanalysmetod

Insamlingen av data har skett via indirekta observationer, då analysresultaten från de olika apparaterna antecknats och sedan analyserats med hjälp av Passing-Bablok-regressionsanalys och Bland-Altman-plotmetod. Med hjälp av Passing-Bablok-regressionsanalysen har man fått ekvationen som kommer att matas in i Efficaprogrammet.

4.3.1 Passing-Bablok-regressionsanalys

Passing-Bablok-regressionsanalys är en statistisk analysmetod som ger en uppfattning om samstämmigheten mellan analysmetoder samt möjliga bias, det vill säga systematiska metodfel, mellan dem. Resultatet åskådliggörs med hjälp av en regressionslinje och en regressionsekvation där interceptvärdet utgör konstanten och lutningskoefficienten det proportionella mätfelet. Konfidensintervallet på 95 % förklarar om interceptvärdet skiljer sig från värdet noll och lutningskoefficienten från värdet ett bara av en slump. Detta möjliggör slutsatsen om metodernas samstämmighet och eventuella åtgärder om det behövs. (Bilic-Zulle, 2011, 49).

Resultatet av Passing-Bablok-regressionsanalysen består av ett punktdiagram med regressionslinje som möjliggör en visuell granskning av data. Passing-Bablok-regressionsanalysen beräknar regressionslinjens ekvation från två datauppsättningar. Regressionsekvationen ($y = a + bx$) åskådliggör skillnaden mellan konstanten (a) och

det proportionella mätfelet (b) med deras respektive konfidensintervall av 95 %. Interceptvärdet utgör konstanten, medan lutningskoefficienten utgör det proportionella mätfelet. Som sagt förklarar konfidensintervallen om interceptvärdet skiljer sig från värdet noll och lutningskoefficienten från värdet ett bara av en slump. (Bilic-Zulle, 2011, 50).

Om konfidensintervallen på 95 % för interceptvärdet innehåller värdet noll, kan man dra slutsatsen att det inte finns någon signifikant skillnad mellan det erhållna interceptvärdet och värdet noll. Detta innebär att det inte förekommer en konstant skillnad mellan de två metoderna. Om konfidensintervallen på 95 % för lutningskoefficienten innefattar värdet ett, kan man dra slutsatsen att det inte finns någon signifikant skillnad mellan det erhållna värdet för lutningskoefficienten och värdet ett. Detta i sin tur betyder att inga proportionella mätfel mellan de två metoderna förekommer. I detta fall kan man anta att $x = y$ och att det inte finns någon signifikant skillnad mellan de två analysmetoderna, utan att båda kan användas omväxlande. (Bilic-Zulle, 2011, 50).

4.3.2 Bland-Altman plot

Forskare jämför ofta olika analysmetoder. Oftast handlar det om att jämföra en ny metod med en etablerad metod för att avgöra om dessa två kan användas omväxlande eller om den nya metoden kan ersätta den etablerade metoden. Om den nya metoden visar sig vara tillförlitlig och korrelerar väl med den gamla metoden, kan den gamla bytas ut. (Myles, P.S. & Cui, J., 2007).

Bland-Altman plot är en grafisk metod som används för analysering av samhörigheten mellan två olika metoder genom jämförelse av data som erhållits från dem. Denna metod används på grund av att den linjära regressionen bara kan beskriva ett linjärt samband mellan två eller fler variabler, utan att kunna förklara om två metoder skiljer sig åt. (R-Statistics, 2008).

Skillnaderna mellan de två metoderna åskådliggörs genom ett spridningsdiagram där skillnaderna plottas mot genomsnittet av de två metoderna. Ett annat alternativ är att skillnader plottas mot en av de två metoderna, om denna metod är en referensmetod. Horisontella linjer dras vid den genomsnittliga skillnaden samt på gränsen av den

genomsnittliga skillnaden $\pm 1,96$ gånger standardavvikelsen (SD) för skillnaderna. (MedCalc Software, 2011).

På detta sätt beräknas den genomsnittliga skillnaden mellan två mätmetoder samt gränsvärdet av 95 % som innebär den genomsnittliga skillnaden av 1,96 SD. Det förväntas att gränsvärdet av 95 % inkluderar 95 % av skillnaderna mellan de två mätmetoderna. Gränsvärdet används vid presentationen av resultatet för att få en visuell bedömning av hur väl de två mätmetoderna överensstämmer. Ju mindre intervallen mellan dessa två gränser är, desto bättre är samstämmigheten mellan metoderna. (Myles, P.S. & Cui, J., 2007).

Bland-Altman plot är användbart för att avslöja sambandet mellan skillnader samt omfattningen av mätningar för att leta efter systematiska fel och identifiera eventuella extremvärden. Om det finns en konsekvent bias, kan den justeras genom att subtrahera den genomsnittliga skillnaden från den nya metoden. Om skillnaderna i medelvärdet $\pm 1,96$ SD inte är kliniskt viktiga, kan de två metoderna användas omväxlande. (MedCalc Software, 2011).

5 Resultat och tolkning

I detta kapitel framläggs undersökningens resultat som gjorts överskådligt med hjälp av Passing-Bablok-regressionsanalys och Bland-Altman-plot. En estimering av den interna variationen för tre av de använda apparaterna har även utförts för att se hur apparaterna mäter och om de är tillförlitliga. Detta har gjorts genom att räkna standarddeviationens estimat för dessa tre apparater.

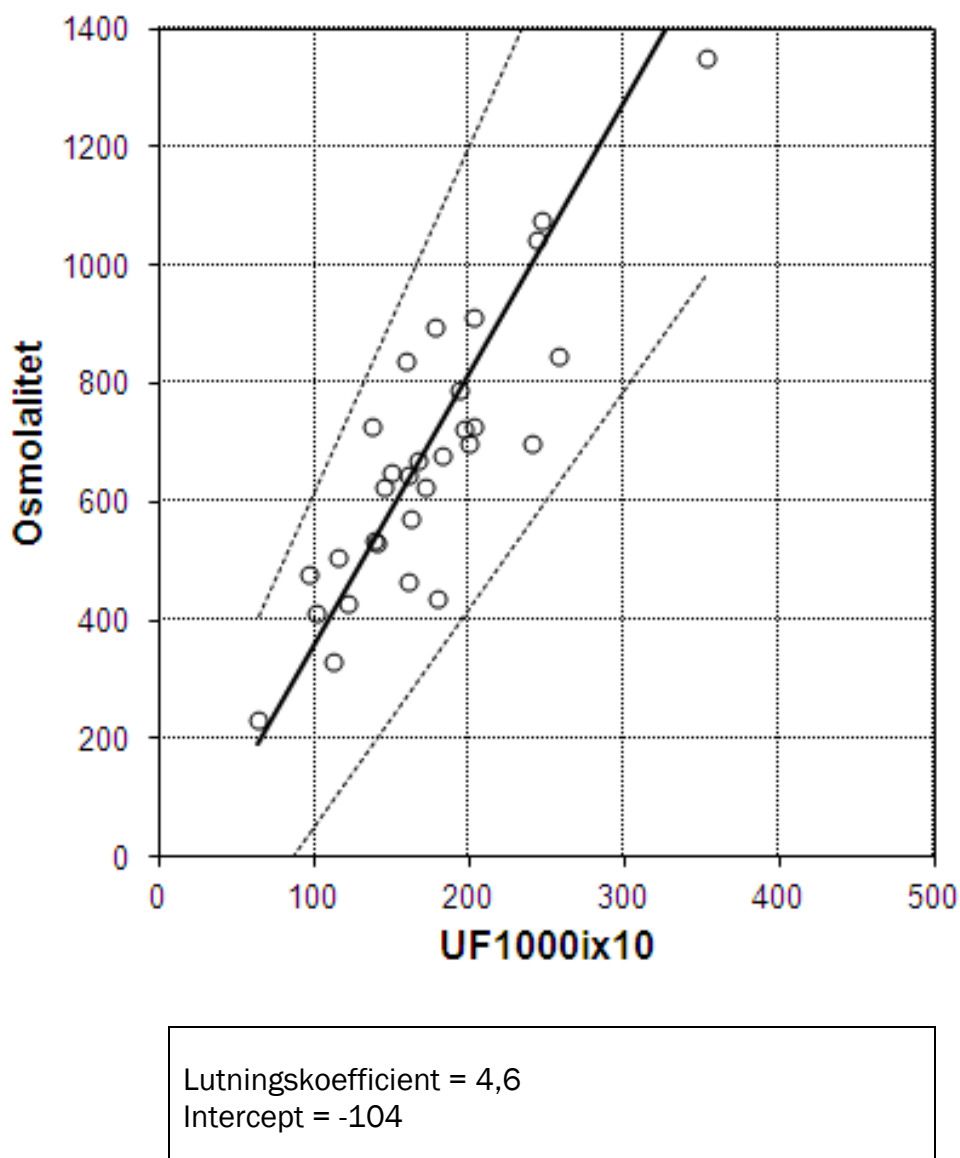
5.1 Regressionsanalys

Av data som samlats in under undersökningens gång har det gjorts en Passing-Bablok-regressionsanalys. Denna typ av regressionsanalys har valts på grund av att de insamlade data har olika enheter. På detta sätt har det fåtts en mera deskriptiv analys av de erhållna data. För att få en matematiskt enklare regression har den specifika viktens värde multiplicerats med tusen och konduktivitetsens värde har multiplicerats med tio. På detta sätt blev det enklare att jämföra dessa två värden med osmolalitetens värden. Detta påverkar inte regressionsanalysen även om ekvationens parametrar ändras.

Tyngdpunkten i undersökningen var att förutsäga urinosmolaliteten från konduktiviteten och från urinens specifika vikt (USG). Därför har konduktiviteten och USG satts i regressionsanalysen som oberoende variabel X och osmolaliteten som beroende variabel Y. I diagrammen som åskådliggör resultaten har konduktivitetsens värde betecknats som Sysmex UF1000i gånger tio (Sysmex UF1000i \times 10), medan USG-värdet har betecknats Atlas gånger 1000 (Atlas \times 1000) eller Advantus gånger 1000 (Advantus \times 1000) beroende på vilken apparat som använts för analysen av proverna.

I en artikel som skrivits av Bilic-Zulle (2011) rekommenderas det, för att få ett tillförlitligt resultat, att minst 40 prov med ett brett koncentrationsintervall testas med två metoder. Resultatet av korrelationen mellan osmolalitetens och konduktivitetsens värden i denna undersökning baserar sig på mätningen av 30 prover, eftersom redan efter körningen av 20 prov märkte respondenten att korrelationen mellan osmolalitet och konduktivitet mätt med Sysmex UF1000i var dålig (se figur 7). Efter att detta konstaterades, slutade respondenten använda apparaten Sysmex UF1000i för

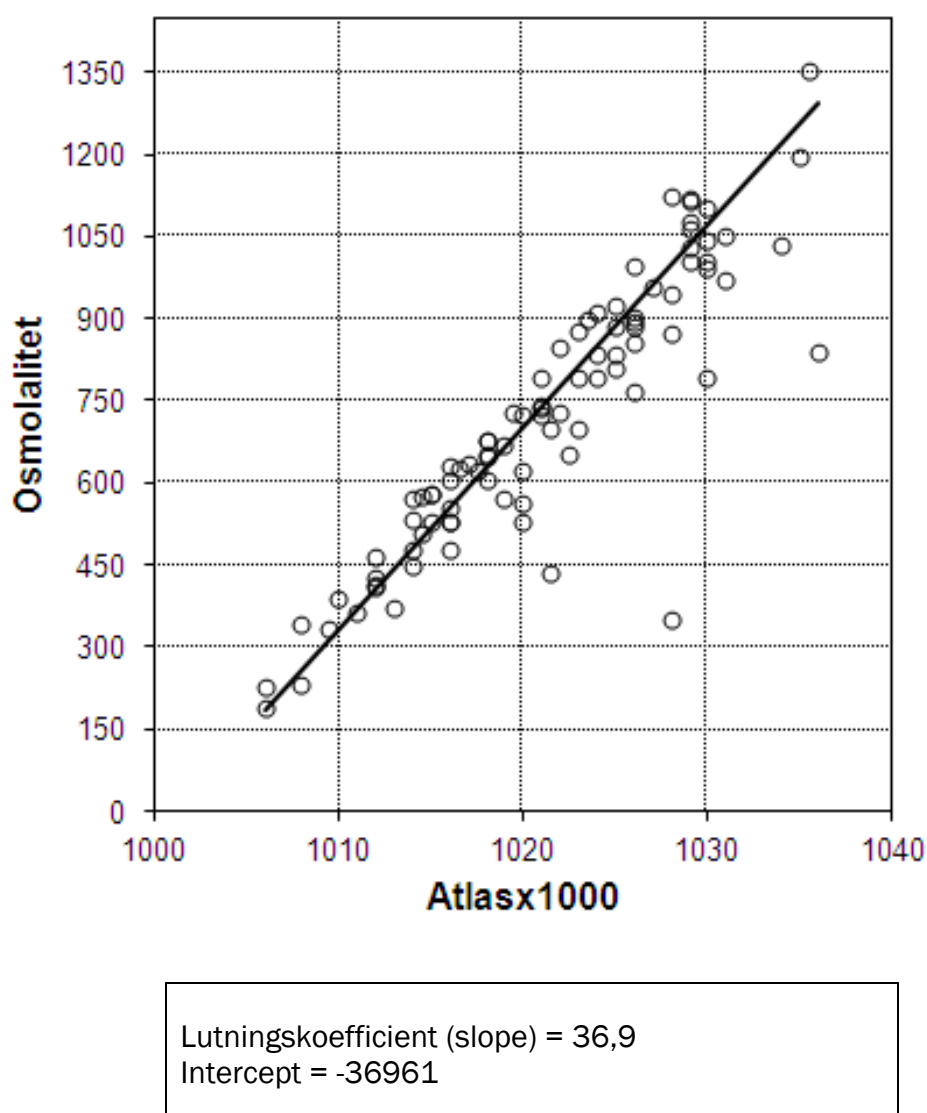
analysen av proverna och koncentrerade sig istället på Clinitek Atlas®. I detta skede av undersökningen togs apparaten Clinitek Advantus® i användning för att mäta korrelationen mellan den och Clinitek Atlas®.



Figur 7. Datajämförelse mellan konduktivitet och osmolalitet.

Korrelationen beskriver hur starkt sambandet mellan två eller flera variabler är. För att uppnå 100 % korrelation bör alla punkter träffa regressionslinjen perfekt. (Ejlertsson, 2003, 105). Figur 7 visar att korrelationen mellan osmolaliteten och konduktiviteten är dålig på grund av att punkterna är för utspridda kring regressionslinjen. Detta betyder att man måste kalibrera om apparaten Sysmex UF1000i för att kunna använda den för beräkning av osmolaliteten ur konduktivitetens värde.

Eftersom korrelationen mellan urinens specifika vikt och osmolaliteten är bra (se figur 8) har respondenten kunnat få ekvationen för Effica-programmet från regressionsanalysen av data som erhållits med Clinitek Atlas®. Därför har respondenten inte gjort någon kalibreringsfunktion för Sysmex UF1000i, utan har bara konstaterat den dåliga korrelationen mellan konduktiviteten och osmolaliteten.

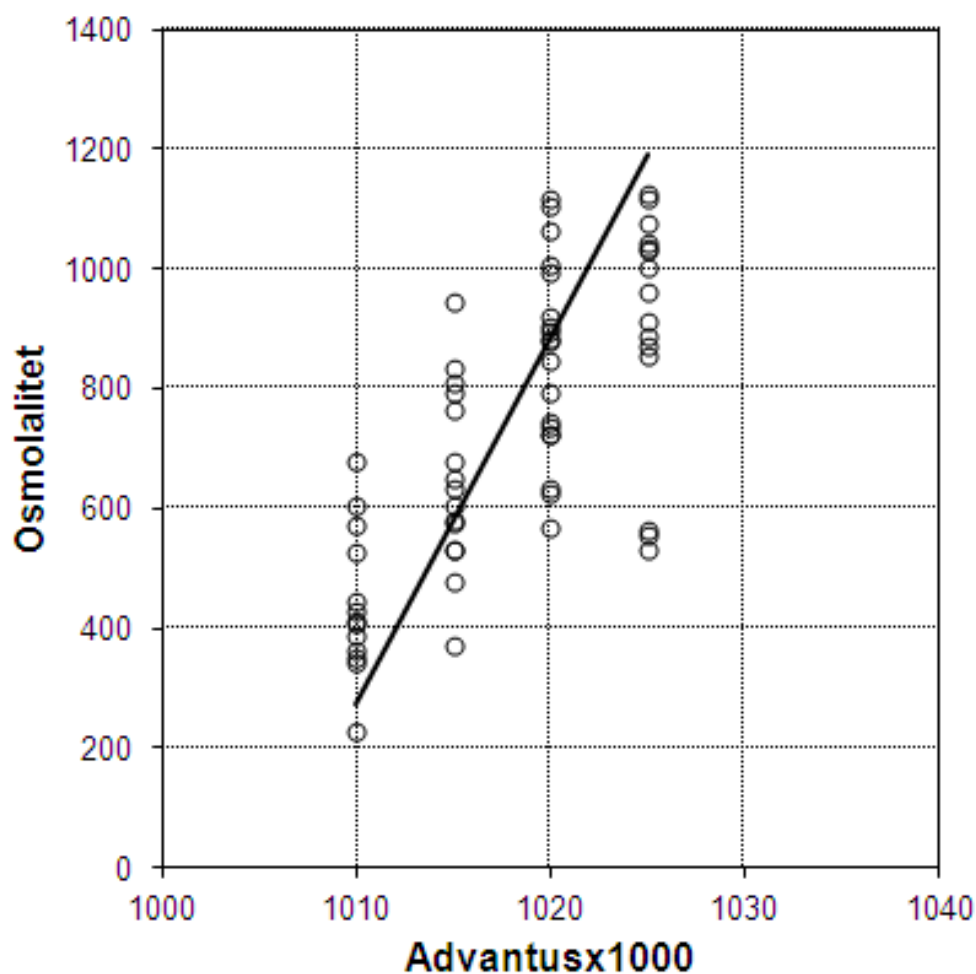


Figur 8. Datajämförelse mellan specifik vikt mätt med Clinitek Atlas® och osmolalitet.

Diagrammet i figur 8 visar att det finns en bra korrelation mellan USG mätt med Clinitek Atlas® och osmolaliteten. Ändå förekommer det störningar i analyseringen eftersom vissa punkter ligger utanför regressionslinjen. Detta kan bero på optiska fel som stör Clinitek Atlas® i analyseringen av provet och som leder till falska höga värden.

Ekvationen för kalibreringsfunktionen till Efficaprogrammet fås från Passing-Bablok-regressionsanalysen. Ekvationens parametrar är lutningskoefficienten, det vill säga slope, och interceptvärdet samt det erhållna USG-värdet som man vill omvandla till osmolalitet. Ekvationen är $y = a + bx$, där osmolalitetsvärdet som man vill förutsäga är y , interceptvärdet är a , lutningskoefficienten är b och USG-värdet är x . Av den utförda regressionsanalysen har man fått ekvationen:

$$y = -36961 + 36,9x$$

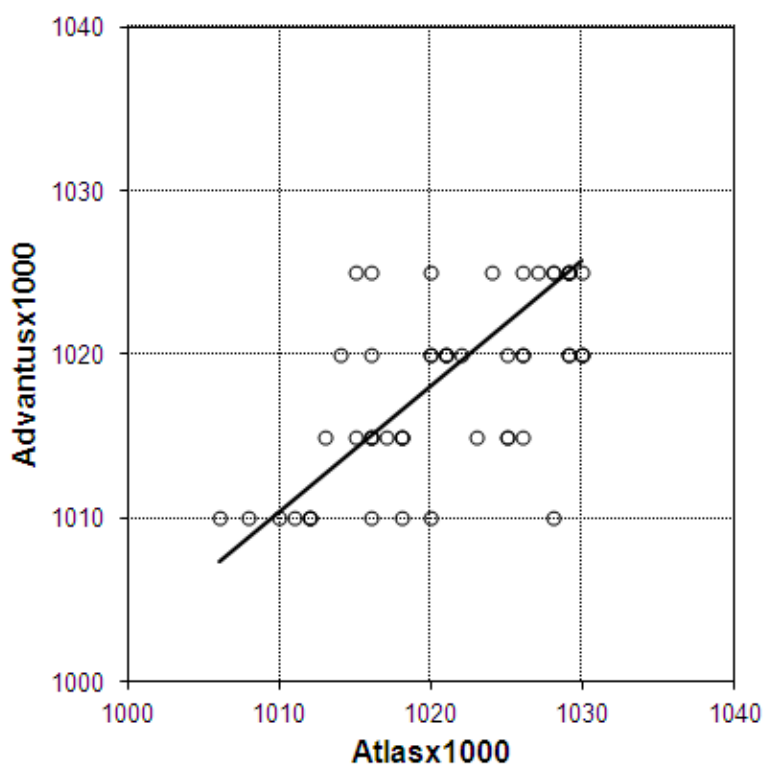


Lutningskoefficient (slope) = 63,6
Intercept = -64008

Figur 9. Datajämförelse av specifik vikt mätt med Clinitek Advantus® och osmolalitet.

Man har även jämfört de data som erhållits genom analys av USG med Clinitek Advantus® med osmolaliteten samt med USG-värdet som erhållits med Clinitek Atlas® för att se hur väl dessa korrelerar med varandra. Resultatet visas i diagrammen i figur 9 och figur 10.

Figur 9 visar tydligt att korrelationen mellan USG-värdet mätt med Clinitek Advantus® och osmolaliteten är dålig. Diagrammet ser lite märkligt ut på grund av punkternas utspridning och lutningskoefficienten är större vid mätning med Clinitek Advantus® än vid mätning med Clinitek Atlas®. Allt detta beror på att apparaten Clinitek Advantus® inte ger ett lika noggrant svar som apparaten Clinitek Atlas®. Båda apparaterna ger svaret med tre decimaler, men medan Clinitek Atlas® ger hela skalan från ett till nio på den sista decimalen gör inte Clinitek Advantus® det, utan den avrundar svaret och ger bara mellanvärdet 5 på den sista decimalen. Exempelvis när Clinitek Atlas® svarar på USG-värdet 1,017, avrundar Clinitek Advantus® och ger svaret 1,020.



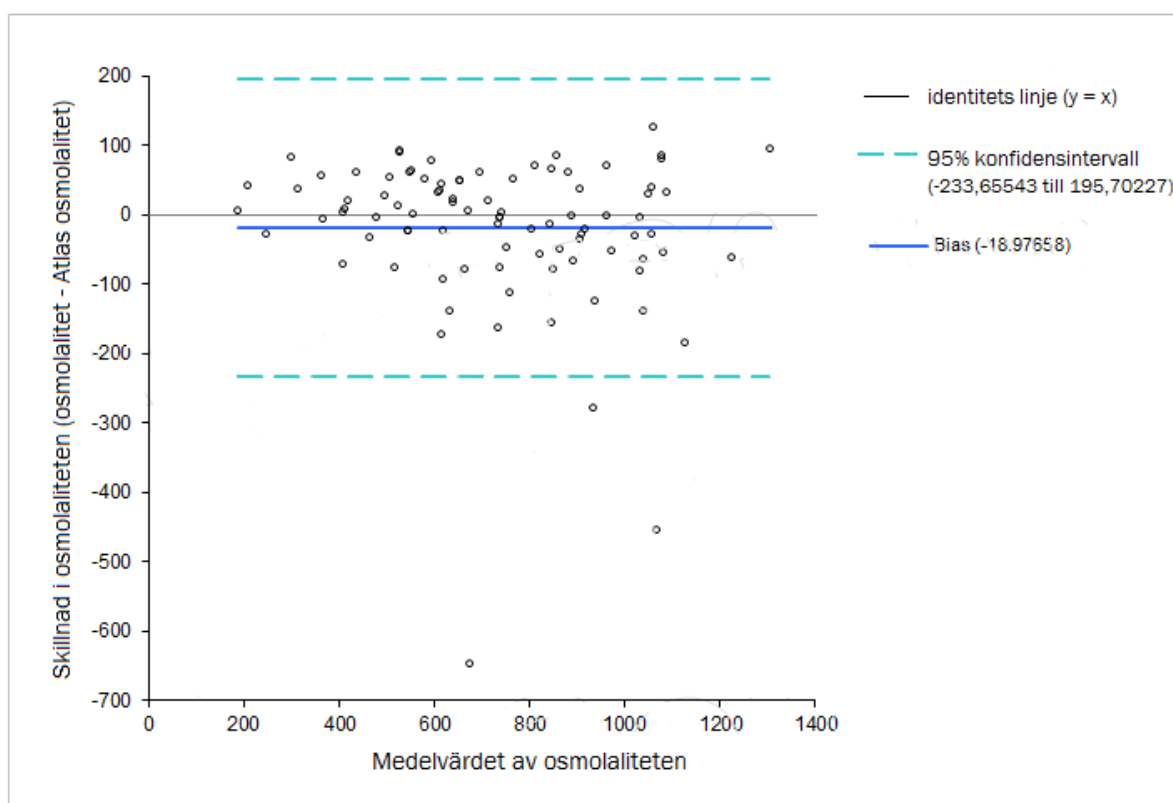
Lutningskoefficient (slope) = 0,8
Intercept = 234

Figur 10. Jämföring av USG-värdet mätt med två apparater.

Figur 10 visar korrelationen mellan Clinitek Atlas® och Clinitek Advantus®. De stora kast som förekommer mellan apparaternas resultat beror, som tidigare har förklarats, på det faktum att Clinitek Advantus® avrundar resultatet och använder färre decimaler än Clinitek Atlas®. Detta ger en dålig korrelation.

5.2 Bland-Altman-plot

Med hjälp av Bland-Altman-plot visas skillnaden mellan mätningar som utförs av olika apparater. Man har i denna undersökning endast valt att åskådliggöra skillnaderna mellan urinosmolaliteten som erhållits vid mätning med osmometern och urinosmolaliteten som erhållits vid omvandling av USG-värdet till osmolalitet med hjälp av ekvationen som fåtts från Passing-Bablok-regressionsanalysen. Detta för att se hur mycket osmolalitetvärden som erhålls med ekvationen skiljer sig från osmolalitetvärden som erhålls med referensmetoden, det vill säga osmometern.



Figur 11. Skillnad i osmolaliteten mätt med osmometern och beräknad från USG.

Diagrammet i figur 11 åskådliggör skillnaderna som finns mellan den egentliga osmolaliteten, som mättes med hjälp av en osmometer, och osmolaliteten som erhållits från urinens specifika vikt. Skillnaden mellan varje mätning som utförts med båda apparaterna utgör värden på Y-axeln, medan medelvärdet av dem utgör värden på X-axeln.

Diagrammet visar att resultaten från de två metoderna stämmer överens med varandra, då de flesta av punkterna ligger nära identitetslinjen $y = x$. Punkterna ligger inom 95 %-konfidensintervallet, vilket också tyder på att det finns en bra samstämmighet mellan de två metoderna. Det faktum att vissa punkter ligger utanför linjen för konfidensintervallet betyder att skillnaderna är normalfördelade då punkterna utanför linjen utgör cirka 5 % av alla punkter.

5.3 Standarddeviation

Man har gjort en estimering av grundvariansen, det vill säga den interna variationen, för tre av de i undersökningen använda apparaterna för att kontrollera apparaternas tillförlitlighet. Standardavvikelsen för en grupp upprepade mätningar anger precisionen för dessa mätningar.

Beräkningen av standarddeviationsestimaten har gjorts genom att utföra upprepade mätningar från samma prov och se hur mycket medelvärdet av de upprepade mätningarna från samma prov avviker från medelvärdet av upprepade mätningar av alla prov. Respondenten har valt att köra samma prov två gånger på alla apparater. Det totala antalet prov som dubbelkörts på tre apparater har varit 20.

Den beräknade standarddeviationen för Clinitek Atlas® är 0,0015. När man beräknar den förekommande skillnaden i mätningarna som skall täcka 95 % av fallen multipliceras standarddeviationsestimaten gånger två. Detta betyder att i 95 % av fallen skiljer sig inte mätningarna från varandra mera än med 0,003 enheter. Detta har estimerats från 20 parallellmätningar och beror på noggrannheten i resultaten som apparaten ger, då Clinitek Atlas® ger resultaten med bara tre decimaler. Av detta kan man dra konklusionen att Clinitek Atlas® är så tillförlitlig som den kan vara.

För apparaten Sysmex UF1000i är den beräknade standarddeviationen 1,3. Detta betyder att i 95 % av fallen skiljer sig inte mätningarna från varandra mera än med 2,6

enheter. Denna skillnad beror på att apparaten anger analysresultaten med bara en decimal. Av detta kan man dra konklusionen att även Sysmex UF1000i är så tillförlitlig som den kan vara.

Standarddeviationen för Osmostat® OM-6020 är av 2 enheter, som innebär att i 95 % av fallen skiljer sig inte mätningarna från varandra mera än med 4 enheter. Skillnaderna beror på att osmometern ger analys svaren med hela tal, utan att ange decimaler. Även Osmostat® OM-6020 är tillförlitlig att använda.

5.4 Sammanfattning

Av de 20 första erhållna resultaten ser man att apparaten Clinitek Atlas® överensstämmer bättre än apparaten Sysmex UF1000i med urinosmolaliteten. Detta visar att värdet av urinens specifika vikt ligger nära osmolalitetvärdet. Av detta har det dragits konklusionen att USG-värdet beräknat med Clinitek Atlas® bör användas för att räkna osmolaliteten och bestämma om provet är tillräckligt koncentrerat. Man har även konstaterat att det är onödigt att fortsätta mäta urinosmolaliteten från konduktiviteten då apparaten Sysmex UF1000i kräver kalibrering, medan Clinitek Atlas® inte kräver det.

Genom beräkningen av standarddeviationen har man konstaterat att apparaterna Clinitek Atlas®, Sysmex UF1000i och Osmostat® OM-6020 är noggranna i sina mätningar och därför tillförlitliga. Man har även konstaterat att apparaten Clinitek Advantus® inte svarar med så stor noggrannhet på grund av att den inte använder så många decimaler då den ger analys svaret.

6 Kritisk granskning och diskussion

Denna del av arbetet presenterar den kritiska granskningen som respondenten gjort av det utförda arbetet samt de erhållna resultaten. Respondenten kommer även att granska hur väl de uppställda målen har uppfyllts.

Syftet med arbetet var att bestämma kalibreringsfunktionen, det vill säga ekvationen, för beräkningen av urinosmolaliteten från konduktiviteten och från urinens specifika vikt. I undersökningen framkom att ekvationen som används i apparaten Sysmex UF1000i för beräkningen av osmolaliteten är felaktig och till följd av det kommer den inte att användas mera. I undersökningen framkom även det positiva sambandet mellan USG och osmolaliteten. Därför har den nya ekvationen som tagits i bruk sin grund i mätresultaten från apparaten Clinitek Atlas®.

Respondenten har på så sätt fått svar på alla de ställda frågeställningarna. Man kan inte använda Sysmex UF1000i för att beräkna urinosmolaliteten utan att en kalibrering av ekvationen sker, detta på grund av den dåliga korrelationen. Genom utvärderingen av standarddeviationen har man sett att analysresultaten som erhålls från Clinitek Atlas® är tillförlitliga samt att den kan användas för att beräkna urinosmolaliteten. Man har också sett att korrelationen mellan Clinitek Atlas® och Clinitek Advantus® är dålig på grund av att Clinitek Advantus® inte ger ett lika noggrant analysresultat som Clinitek Atlas®.

I den praktiska delen av arbetet har respondenten noggrant följt anvisningarna för analyse med varje apparat. På detta sätt har de flesta felkällor undvikits. De stora kast som observerades mellan konduktivitets- och osmolalitetsvärdena kan bero på oladdade partiklar, exempelvis glukos, som sensorn i apparaten Sysmex UF1000i inte kan mäta. Detta utgör faktiskt den största felkällan, eftersom glukos höjer osmolaliteten, men inte mäts av Sysmex UF1000i. En annan felkälla som förekommer i mätningen av urinens konduktivitet är att den påverkas av natrium- och urinsyrakoncentrationen.

Teoretiskt sett, då man jämför osmolaliteten mot urinens specifika vikt, borde Clinitek Atlas® vara noggrann, men det förekommer störningar i analysen. Därför ligger vissa punkter utanför linjen. En möjlig felkälla kan vara att provrester torkat i brunnen för mätningen av USG och på det sättet kontaminerat den optiska fibern. I så fall borde

flera prover efter varandra visa förhöjda värden, eftersom torkade provrester påverkar noggrannheten för de följande USG-avläsningarna tills brunnen rengjorts. En annan möjlig felkälla kan vara ökade mängder av vissa ämnen, till exempel glukos och proteiner, som ger missvisande USG-värden. Denna möjlighet är mera trolig i detta fall eftersom de avvikande USG-värdena ligger utspridda och förekommer ibland.

Denna undersökning kommer att hjälpa till att fånga upp prov som inte är tillräckligt koncentrerade. Detta kommer att leda till att ett nytt prov begärs. Om det nya provet fortsättningsvis är för utspätt kommer den bakomliggande orsaken att undersökas. För patienten innebär detta att man kommer att få fast eventuell njurdysfunktion i ett tidigt skede och att behandlingen kommer igång fortare än om patienten skulle uppsöka vård först vid uppkomsten av symptomen.

Respondenten har inte under undersökningens gång tagit i beaktande konserveringsmedlens möjliga påverkan på osmolaliteten. Det skulle ha varit intressant att se om det förekommer någon sådan skillnad och även hur mycket det påverkar resultatet, men det fanns inte möjlighet för det. För att kunna beräkna konserveringsmedlens påverkan på urinosmolaliteten borde det tas urinprov av en och samma patient i både rör med och utan konserveringsmedel och sedan analysera osmolaliteten och jämföra resultat. Man kunde då ta prov av både friska och sjuka individer och på detta sätt kontrollera om det finns skillnader mellan normala och patologiska urinprov.

Källförteckning

- Bilic-Zulle, L. (2011). Comparison of methods: Passing and Bablok regression. http://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=96718 (hämtad: 19.9.2011).
- Bjålie, J.G., Haug, E., Sand, O., Sjaastad, O.V. & Toverud, K.C. (2007). *Människokroppen, fysiologi och anatomi*. Stockholm: Liber.
- Burton, D.R. (2009). Urine osmolality versus specific gravity. <http://www.uptodate.com/contents/urine-osmolality-versus-specific-gravity> (hämtad: 20.4.2011).
- De Buys Roessingh, A.S., Drukker, A. & Guignard, J-P. (2001). Dipstick measurements of urine specific gravity are unreliable. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1718890/pdf/v085p00155.pdf> (hämtad: 14.2.2011).
- Delaney, M.P., M.D., F.R.C.P., & Price, C.P., Ph.D., F.R.C. Path. (2008). Kidney Function and Disease. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. & Bruns, D.E. (red.) *Fundamentals of clinical chemistry (Sixth edition)*. Elsevier: Saunders.
- eHealth. (2010). Product News: Sept 2010. <http://www.ehealthonline.org/articles/article-details.asp?Title=Product%20News:%20Sept%202010&ArticalID=2427&Type=NEWS%20REVIEW> (hämtad: 21.1.2011).
- Ejlertsson, G. (2003). *Statistik för hälsovetenskaperna*. Lund: Studentlitteratur.
- Encyclopedia Britannica*. (2011). Specific gravity. <http://www.britannica.com> (hämtad: 15.2.2011).
- Faulkner, W.R., Ph.D., & King, J.W., M.D., Ph.D. (1976). Renal function. In: Tietz, N.W. (red.) *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Freier, E.F., M.T. (ASCP) & M.S. (1994). Osmometry. In: Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. (red.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, second edition*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Gelbakhiani, G., Ebralidze, K., Zedania, Z. & Tugushi, M. (2009). Osmolar gap in the clinical practice and the way of decrease the quantitative data of osmolar gap by using fundamentally new method of measuring of osmolality. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19430044> (hämtad: 18.3.2011).

Grubb, A., Christensson, A. & Sterner, G. (2003a). Nefronets distal segment – utsöndring av vätejoner och koncentrationsförmåga. Ingår i: Nilsson-Ehle, P. (red.) *Laurells klinisk kemi i praktisk medicin, 8:e upplaga*. Lund: Studentlitteratur.

Grubb, A., Christensson, A. & Sterner, G. (2003b). Testremsor och urinsediment för screening av urinprov. Ingår i: Nilsson-Ehle, P. (red.) *Laurells klinisk kemi i praktisk medicin, 8:e upplaga*. Lund: Studentlitteratur.

Helmenstine, A.M. (2011). What is the chemical Composition of Urine?

<http://chemistry.about.com> (hämtad: 20.10.2011).

Kavucku, s., Turkmen, M., Soylu, A. & Kuralay, F. (1998). Could conductivity be used as aparameter in urinalysis? <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10067039> (hämtad: 10.2.2011).

Lindström, G.B. & Toverud, K.C. (2010). Njurar och urinvägar.

<http://www.1177.se/Tema/Kroppen/Matsmaltning-och-urinvagar/Njurar-och-urinvagar/> (hämtad: 26.9.2011).

Leech, S. & Penney, M. D. (1987). Correlation of specific gravity and osmolality of urine in neonates and adults.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1779236/?tool=pubmed> (hämtad: 10.5.2011).

MedCalc Software. (2011). Bland-Altman plot.

<http://www.medcalc.org/manual/blandaltman.php> (hämtad: 28.9.2011).

MedicineNet. (2011). Definition of Urine.

<http://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=5915> (hämtad: 20.10.2011).

Myles, P.S. & Cui, J. (2007). Using the Bland-Altman method to measure agreement with repeated measures. <http://bj.oxfordjournals.org/content/99/3/309.full> (hämtad: 28.9.2011).

Nationalencyclopedia. (2011a). Densitet. <http://www.ne.se> (hämtad: 15.2.2011).

Nationalencyclopedia. (2011b). Konduktivitet. <http://www.ne.se> (hämtad: 22.2.2011).

Nationalencyclopedia. (2011c). Specifik vikt. <http://www.ne.se> (hämtad: 15.2.2011).

Operating manual of Auto-Osmometer Osmostat® OM-6020. (u.å.). Principle.

Putnam, D.F. (1971). Composition and Concentrative Properties of Human Urine.

http://ntrs.nasa.gov/archive/nasa/casi.ntrs.nasa.gov/19710023044_1971023044.pdf
(hämtad: 20.11.2011).

R-Statistics. (2008). Bland-Altman. <http://rstats.tiddlyspot.com/#Bland-Altman> (hämtad: 28.9.2011).

Sand, O., Sjaastad, Ö.V. & Haug, E. (2004). *Människans fysiologi*. Stockholm: Liber.

Scott, M.G., Ph.D., Le Grys, V.A., D.A., M.T. (ASCP), C.L.S. (N.C.A), M.D. & Klutts, J.S. (2008). Electrolytes and Blood Gases. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. & Bruns, D.E. (red.) *Fundamentals of clinical chemistry (Sixth edition)*. Elsevier: Saunders.

Sethi, I., Goldwater, E., Shutty, C., Flynn, E. & Henner, D. (2010). Is specific gravity a good estimate of urine osmolality?. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcla.20424/full>
(hämtad: 14.2.2011).

Siemens. (2008). Clinitek Atlas® Automated Urine Chemistry Analyzer, Operating Manual.

Siemens. (2011a). CLINITEK Advantus® Analyzer - Technical Specifications.
http://www.medical.siemens.com/webapp/wcs/stores/servlet/ProductDisplay~q_catalogId~e_-111~a_catTree~e_100001,1023069,1028367~a_langId~e_-111~a_productId~e_175341~a_storeId~e_10001~a_view~e_38.htm (hämtad: 20.5.2011).

Siemens. (2011b). CLINITEK Advantus® Analyzer.
http://www.medical.siemens.com/webapp/wcs/stores/servlet/ProductDisplay~q_catalogId~e_-111~a_catTree~e_100001,1023069,1028367~a_langId~e_-111~a_productId~e_175341~a_storeId~e_10001.htm (hämtad: 1.9.2011).

Siemens. (2011c). Clinitek Atlas® Automated Urine Chemistry Analyzer (Rack).
http://www.medical.siemens.com/webapp/wcs/stores/servlet/ProductDisplay~q_catalogId~e_-111~a_catTree~e_100001,1023065,1023515~a_langId~e_-111~a_productId~e_172988~a_storeId~e_10001.htm (hämtad: 1.9.2011).

Simonsen, F. (2005). *Analysteknik, instrument och metoder*. Lund: Studentlitteratur.

Solunetti. (2006). Osmos. <http://www.solunetti.fi> (hämtad: 26.9.2011).

Sysmex UF-1000i. (2007). Instructions for Use, Chapter 10.

Sysmex. (2011). Sysmex UF-1000i™ Automated Urine Particle Analyzer.
<http://www.sysmex.com/us/en/Products/Urinalysis/Pages/UF1000-Urinalysis-Analyzer.aspx> (hämtad: 1.9.2011).

The free dictionary by Farlex. (2011a). Specific gravity. <http://www.thefreedictionary.com> (hämtad: 2.5.2011).

The free dictionary by Farlex. (2011b). Relative density.
<http://encyclopedia2.thefreedictionary.com> (hämtad: 2.5.2011).

Theodorsson, E. & Malm, J. (2003). Salt- vattenbalans. Ingår i: Nilsson-Ehle, P. (red.) *Laurells klinisk kemi i praktisk medicin, 8:e upplaga*. Lund: Studentlitteratur.

Tietz, N.W., Ph.D., Siggaard-Andersen, O., M.D. & Pruden, E.L. (1994). Acid-base balance and acid-base disorders. In: Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. (red.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, second edition*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Vaasan Keskussairaala Laboratorio-ohjekirja. (2010). U- Osmolaliteetti.
<http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/fi/ohjekirja/2444.htm> (hämtad: 6.6.2011).

Vitech Scientific – Vital Clinical Photometers. (2011). Osmometers, What do they do?.
<http://www.pharmaceutical-int.com/article/osmometers-what-do-they-do.html> (hämtad: 18.3.2011).

Whelton, A., M.D., Watson, A.J. & Rock, R.C. (1994). Nitrogen metabolites and renal function. In: Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. (red.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, second edition*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Wikipedia, den fria encyclopedin. (2011a). Densitet. <http://www.sv.wikipedia.org> (hämtad: 15.2.2011).

Wikipedia, den fria encyclopedin. (2011b). Specifik vikt. <http://www.sv.wikipedia.org> (hämtad: 15.2.2011).